

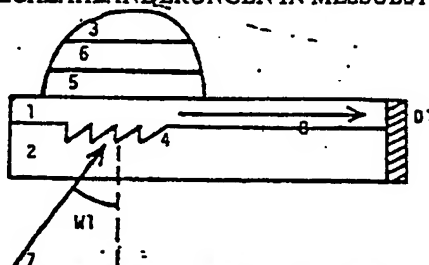


INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁴ : G01N 21/41, 21/75, 33/53	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 86/ 07149 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. Dezember 1986 (04.12.86)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH86/00072</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. Mai 1986 (29.05.86)</p> <p>(31) Prioritätsaktenzeichen: 2256/85-8 2257/85-0</p> <p>(32) Prioritätsdaten: 29. Mai 1985 (29.05.85) 29. Mai 1985 (29.05.85)</p> <p>(33) Prioritätsland: CH</p> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: TIEFENTHALER, Kurt [AT/CH]; Bächlerstr. 7, CH-8046 Zürich (CH). LU- KOSZ, Walter [DE/CH]; Burstwiesenstr. 55, CH-8606 Greifensee (CH).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: TIEFENTHALER, Kurt; Bächlerstr. 7, CH-8046 Zürich (CH).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), AU, BE (europäisches Patent), BR, CH (europäisches Pa- tent), DE (europäisches Patent), FR (europäisches Pa- tent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Pa- tent), JP, KR, LU (europäisches Patent), NL (euro- päisches Patent), SE (europäisches Patent), US.</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelas- senen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls An- derungen eintreffen.</i></p>	

(54) Title: OPTICAL SENSOR FOR SELECTIVELY DETERMINING THE PRESENCE OF SUBSTANCES AND
THE VARIATION OF THE REFRACTION INDEX IN THE MEASURED SUBSTANCES

(54) Bezeichnung: OPTISCHER SENSOR ZUM SELEKTIVEN NACHWEIS VON SUBSTANZEN UND ZUM
NACHWEIS VON BRECHZAHLÄNDERUNGEN IN MESSSUBSTANZEN



(57) Abstract

The optical sensor intended to determine the presence of specific substances and the variation of the refraction index within gaseous, liquid, solid or porous substances to be measured is comprised of integrated optical elements. The present device comprises a wave-guide film (1) provided with a diffraction grating (4) deposited on a substrate (2). In order to selectively establish the presence of specific substances within a measure substance (3), at least the area of the diffraction grating is covered with a layer of selective chemisorption substance (5). The measurement substance (3) is deposited at least in the area of the grating directly on the wave-guide film (1) or on the selective chemisorption layer (5). An additional layer (6) is formed on the wave-guide film (1) by the substance to be detected and contained within the measurement substance (3) by chemisorption of said substance to be measured. The sensing principle lies on the fact that the presence of the additional layer (6) and/or the modification of the refraction index of the measurement substance (3) modify the effective refraction index N within the wave-guide film (1) for the light-wave which propagates therein. In order to detect this change, the hereabove disclosed arrangement (1, 2, 3, 4, 5) is provided as a grating coupler or a Bragg reflector.

Best Available Copy

(57) Zusammenfassung Der optische Sensor zum Nachweis von spezifischen Substanzen und von Brechzahländerungen in gasförmigen, flüssigen, festen oder porösen Messsubstanzen ist mit integriert optischen Elementen aufgebaut. Er besteht aus einem mit einem Beugungsgitter (4) versehenen wellenleitenden Film (1), der auf ein Substrat (2) aufgebracht ist. Für den selektiven Nachweis von spezifischen Substanzen in einer Messsubstanz (3) ist zumindest der Gitterbereich mit einer selektiv chemisorbierenden Zusatzschicht (5) bedeckt. Die Messsubstanz (3) wird zumindest in der Gitterregion entweder direkt auf den wellenleitenden Film (1) oder auf die selektiv chemisorbierende Zusatzschicht (5) aufgebracht. Durch Chemisorption einer in der Messsubstanz (3) enthaltenen und nachzuweisenden Substanz an die Zusatzschicht (5) wird eine weitere Schicht (6) an den wellenleitenden Film (1) angelagert. Das Sensorprinzip besteht nun darin, dass die Chemisorption einer weiteren Schicht (6) und/oder eine Brechzahländerung der Messsubstanz (3) eine Änderung der effektiven Brechzahl N einer im wellenleitenden Film (1) geführten Lichtwelle bewirkt. Zur Detektion dieser Änderung wird die oben beschriebene Anordnung (1, 2, 3, 4, 5) als Gitterkoppler oder Bragg-Reflektor eingesetzt.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT Österreich	FR Frankreich	ML Mali
AU Australien	GA Gabun	MR Mauritien
BB Barbados	GB Vereinigtes Königreich	MW Malawi
BE Belgien	HU Ungarn	NL Niederlande
BG Bulgarien	IT Italien	NO Norwegen
BR Brasilien	JP Japan	RO Rumänien
CF Zentrale Afrikanische Republik	KP Demokratische Volksrepublik Korea	SD Sudan
CG Kongo	KR Republik Korea	SE Schweden
CH Schweiz	LI Liechtenstein	SN Senegal
CM Kamerun	LK Sri Lanka	SU Sowjet Union
DE Deutschland, Bundesrepublik	LU Luxemburg	TD Tschad
DK Dänemark	MC Monaco	TG Togo
FI Finnland	MG Madagaskar	US Vereinigte Staaten von Amerika

- 1 -

Optischer Sensor zum selektiven Nachweis von Substanzen und zum Nachweis von Brechzahländerungen in Messsubstanzen.

Die vorliegende Erfindung betrifft einen optischen Sensor gemaess Oberbegriff des Patentanspruches 1. Ein bekanntes Geraet zur Erfassung von Brechzahländerungen in Fluessigkeiten, Festkoerpern und poroesen Messsubstanzen ist das Refraktometer, das den Totalreflexionswinkel zwischen zwei Medien bestimmt, wobei das Referenzmedium aus einem hochbrechenden Prisma besteht, dessen Brechzahl bekannt ist. Ein bekanntes Geraet zum Nachweis von Chemisorbatschichten oder von chemisch gebundenen Schichten auf Oberflaechen ist das Ellipsometer, das den Polarisationszustand des an der Chemisorbatschicht reflektierten Lichtes analysiert (vergleiche hierzu R. Azzam et al., Physics in Medicine and Biology 22 (1977) 422-430, P.A. Cuypers et al., Analytical Biochemistry 84 (1978), 56-67). Diese Geraete beanspruchen relativ viel Platz und das benoetigte Messvolumen ist verhaeltnismaessig gross, was fuer kostspielige Messsubstanzen von grossem Nachteil sein kann. Zudem ist im Falle des Ellipsometers die Messgenauigkeit beschraenkt, da die Messkuevette den Polarisationszustand des Lichtes beeinflusst. Ein anderes bekanntes Instrument zum Nachweis von adsorbierten

- 2 -

Antigenen, Antikörpern und Haptenen ist das Reflektometer, wie es in EP 0073980 beschrieben wird. Ein relativ neues Verfahren zur Detektion von Adsorbatschichten besteht in der Anregung von Oberflächenplasmonen an Metallschichtgrenzflächen mit oder ohne Verwendung von Beugungsgittern (vergleiche hierzu B. Liedberg et al., Sensors and Actuators 4 (1983), 299 und EP 0112721). Dünne Metallschichten sind bekanntlich nicht sehr stabil und zeigen Alterungseffekte in ihren optischen Eigenschaften, was Probleme bei der praktischen Anwendung mit sich bringen könnte.

Die gebräuchlichsten Verfahren zur immunologischen Bestimmung von Antikörpern, Antigenen und Haptenen bzw. zur Konzentrationsbestimmung von Stoffwechselprodukten wie Glucose basieren auf der Verwendung von Markierungssubstanzen wie Radioisotope, Enzyme oder Fluorochrome (EP 0103426, USP 4344438), die chemisch an einen Gegenliganden, d. h. an das komplementäre Biomolekül gebunden werden. Vielfach führt die Markierung jedoch zu einer Störung des Bindungsverhaltens des betreffenden Biomoleküls, d. h. die Bindungsaffinität nimmt ab.

Ellipsometrie, Reflektometrie und Oberflächenplasmonanregung lassen eine direkte Messung (ohne Markierungssubstanzen) der immunologischen Reaktion zu, haben aber oben erwähnte Nachteile. Eine weitere Methode zur direkten Messung ist die Nephelometrie, welche aber nicht sehr

empfindlich ist.

Die Erfindung, wie sie in den Ansprüchen gekennzeichnet ist, löst die Aufgabe, einen optischen Sensor zu schaffen, welcher eine oder mehrere der folgenden charakteristischen Eigenschaften aufweist, naemlich

1. den selektiven Nachweis von spezifischen Substanzen in gasfoermigen, fluessigen, festen oder poroesen Messsubstanzen zu ermoeeglichen,
2. Aenderungen in der Oberflaechenbelegung bis ca. von einem Hundertstel einer monomolekularen Schicht noch aufzuloesen,
3. Brechzahlaenderungen von Gasen, Fluessigkeiten, Festkoerpern oder poroesen Materialien bis in die Groessenordnung von 10^5 noch aufzuloesen,
4. gleichzeitig und fortlaufend zwischen Oberflaechenbelegung und Brechzahlaenderung zu unterscheiden,
5. ein sehr geringes Messvolumen zu benoetigen,
6. moeglichst wenig Platz zu beanspruchen,
7. durch Integration von verschiedenen Messflaechen auf einem Chip multifunktional arbeiten zu koennen.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Zeichnungen beispielsweise naeher erlaeutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung der Grundelemente der Erfindung, wobei eine an der Oberflaeche eines Substrats befindliche wellenleitende Struktur, welche in den Figuren als planarer wellenleitender Film eingezeichnet ist, mit einem Beugungsgitter und gegebenenfalls mit einer

Zusatzschicht versehen ist,

Fig. 2 eine erfindungsgemaesse Messeinrichtung mit einem Gittereinkoppler,

Fig. 3 eine erfindungsgemaesse Messeinrichtung mit einem Gitterauskoppler,

Fig. 4 eine erfindungsgemaesse Messeinrichtung mit einem Bragg-Reflektor,

Fig. 5 eine erweiterte schematische Darstellung der Grundelemente der Erfindung, wobei die wellenleitende Struktur ausserhalb der Gitterregion mit einer Schutzschicht bedeckt ist,

Fig. 6 eine erweiterte schematische Darstellung der Grundelemente der Erfindung, wobei sich zwischen Masssubstanz und wellenleitender Struktur mit oder ohne Zusatzschicht eine Membran befindet, die gegebenenfalls an einer Kuvette befestigt ist,

Fig. 7 eine erfindungsgemaesse Einrichtung zur indirekten Messung der Intensitaet der gefuehrten Lichtwelle, wobei das von der gefuehrten Lichtwelle erzeugte Streulicht mit einer Faseroptik aufgefangen und einem Detektor zugefuehrt wird,

Fig 8 eine erfindungsgemaesse Einrichtung zur indirekten Messung der Intensitaet der gefuehrten Lichtwelle, wobei die Intensitaet einer oder mehrerer nicht eingekoppelter Beugungsordnungen gemessen wird.

Grundbaustein der integrierten Optik ist die wellenleitende Struktur, insbesondere der planare Wellenleiter. Dieser

- 5 -

besteht aus einer duennen dielektrischen Schicht, die sich auf einem Substrat befindet. Eingekoppeltes Laserlicht kann durch Totalreflexion in dieser duennen Schicht gefuehrt werden. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit einer solchen gefuehrten Lichtwelle (nachstehend als "Mode" bezeichnet) betraegt c/N , wobei c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum und N die effektive Brechzahl des im Wellenleiter gefuehrten Modes sind. Die effektive Brechzahl N wird einerseits durch die Konfiguration des Wellenleiters (Schichtdicke und Brechzahl der duennen wellenleitenden Schicht sowie Brechzahl des Substrats) und andererseits durch die Brechzahl des an die duenne wellenleitende Schicht angrenzenden Mediums festgelegt.

Lichtwellenleitung kann nicht nur in einer duennen planaren Schicht sondern auch in anderen wellenleitenden Strukturen bewirkt werden, insbesondere in Streifenwellenleitern, bei denen die wellenleitende Struktur in Form eines streifenfoermigen Films vorliegt.

Auf der wellenleitenden Schicht (oder zwischen dieser und dem Substrat) kann eine duenne Zusatzschicht angebracht werden, ohne dass die wellenleitenden Eigenschaften des Schichtsystems vollstaendig zerstoert werden.

Ein fuer die Wirkungsweise des Sensors wesentlicher Effekt ist, dass eine Aenderung der effektiven Brechzahl N hervorgerufen wird durch eine Aenderung des an die wellenleitende Schicht (mit oder ohne Zusatzschicht)

angrenzenden Mediums und/oder durch eine Aenderung der Brechzahl (und/oder der optischen Absorption) und/oder der Dicke der wellenleitenden Schicht selbst oder einer an sie angrenzenden Zusatzschicht, wobei diese Aenderungen durch Molekuele der nachzuweisenden Substanz ueber Adsorptions-, Desorptions-, oder Chemisorptionsvorgaenge oder ueber chemische Reaktionen bewirkt werden.

Zum Nachweis von Brechzahlaenderungen einer Messsubstanz wird diese direkt auf die wellenleitende Schicht (die gegebenenfalls mit einer Zusatzschicht bedeckt sein kann) aufgebracht oder gegebenenfalls auf eine geeignete Membran, welche verhindert, dass in der Messsubstanz vorhandene Verunreinigungen insbesondere Partikel mit der wellenleitenden Schicht in Kontakt kommen und die Messung stoeren.

Die Selektivitaet beim Nachweis von einer spezifischen Substanz, die in einer Messsubstanz enthalten ist (z.B. von gewissen Biomolekuelen in einer fluessigen Phase), wird durch eine der beiden folgenden Massnahmen oder durch ihre Kombination erreicht:

- 1) Mit einer Membran, die bevorzugt die nachzuweisende Substanz durchlaesst, wird bewirkt, dass nur die nachzuweisende Substanz mit der wellenleitenden Schicht mit oder ohne Zusatzschicht in Kontakt kommt.
- 2) Durch geeignete Wahl der Zusatzschicht wird bewirkt, dass bevorzugt die nachzuweisende Substanz im Innern oder an der Oberflaeche der Zusatzschicht physi- oder chemisorbiert wird

oder chemische Reaktionen und/oder die Desorption gewisser Teile der Zusatzschicht ausloest.

Das Prinzip des Sensors beruht darauf, dass Aenderungen der effektiven Brechzahl mit einem als Gittereinkoppler oder als Gitterauskoppler oder als Bragg-Reflektor dienenden Beugungsgitter detektiert werden koennen. Die Wirkungsweise des Gittereinkopplers, des Gitterauskopplers und des Bragg-Reflektors wird anhand der Figuren naeher beschrieben.

Fig. 1 zeigt in schematischer Darstellung die Grundelemente der Erfindung. Eine duenne Schicht befindet sich in Form eines planaren wellenleitenden Films 1 auf einem Substrat 2 (beispielsweise einem Pyrex-Glas). Der wellenleitende Film 1 und das Substrat 2 bilden zusammen den sogenannten Wellenleiter 1/2. Der wellenleitende Film kann beispielsweise aus einer Oxidschicht (wie SiO_2 , TiO_2 , SnO_2 oder Mischungen davon) oder einer Kunststoffschicht (wie Polystyrol, Polycarbonat etc.) oder aus Kombinationen von zwei oder mehreren Schichten uebereinander bestehen. Mit Diffusionstechniken kann beispielsweise auch die Oberflaeche eines Substrats derart behandelt werden, dass unmittelbar unter der Oberflaeche ein wellenleitender Film entsteht. Damit sich Laserlicht via Totalreflexion im wellenleitenden Film 1 ausbreiten kann, muss die Brechzahl des wellenleitenden Films 1 groesser als die der benachbarten Medien (d.h. des Substrats 2 und der Messsubstanz 3) sein. Der wellenleitende Film 1 darf auch eine mikroporoese

Struktur aufweisen, wie dies zum Beispiel bei der Filmherstellung mit einem Tauchbeschichtungsverfahren erreicht werden kann.

Auf der entweder dem Substrat 2 oder der Masssubstanz 3 zugewandten Oberflaeche des wellenleitenden Films 1 oder auch in dessen Volumen befindet sich ein Beugungsgitter 4 der Laenge L. Oberflaechen-reliefgitter koennen beispielsweise mit einem Praegeverfahren hergestellt werden, wobei die Gitterstruktur des Masters entweder in das Substrat 2 oder in den wellenleitenden Film 1 eingepraegt wird. Das Praegen in Kunststoffen und organometallischen Sol-Gel-Schichten ist in der Literatur beschrieben (vergleiche z.B. R. Ulrich et al., Appl. Phys. Lett. 20 (1972), 213-215 und W. Lukosz und K. Tiefenthaler, Optics Letters 8 (1983), 537-539).

Insbesondere ist es mit der Praegetechnik moeglich, auch wenn der Praegestempel ein gleichmaessig moduliertes Mastergitter aufweist, eine in Richtung senkrecht zu den Gitterstrichen ortsabhaengige Modulation des gepraegten Oberflaechenreliefgitters zu erzeugen. Dies kann insbesondere dadurch erreicht werden, dass der Praegedruck ortsabhaengig ist und das Mastergitter und/oder das Substrat 2 mit oder ohne wellenleitendem Film 1 durchbiegbar sind. Ein Oberflaechenreliefgitter, das aus zwei stark modulierten Gitterbereichen besteht, die durch einen weniger stark modulierten Bereich getrennt sind, kann mit erwaehnter

Praegetechnik hergestellt werden, indem das Mastergitter mit zwei räumlich getrennten zueinander parallelen Schneiden gegen das Substrat 2 mit oder ohne wellenleitendem Film 1 gedrueckt wird.

Das Beugungsgitter 4 dient dazu, entweder einen einfallenden Laserstrahl in den wellenleitenden Film 1 einzukoppeln oder einen bereits im wellenleitenden Film 1 gefuehrten Mode auszukoppeln oder einen gefuehrten Mode teilweise in Vorwaertsrichtung durchzulassen und teilweise zu reflektieren.

Der wellenleitende Film 1 ist gegebenenfalls zumindest in der Gitterregion mit einer Zusatzschicht 5 bedeckt, welche einen selektiven Nachweis einer in der Messsubstanz 3 enthaltenen Substanz ermoeeglicht. Die zu untersuchende Substanz 3, welche auch als "Messsubstanz" bezeichnet wird, wird zumindest in der Gitterregion auf die Zusatzschicht 5 bzw. auf den wellenleitenden Film 1 aufgebracht.

Wird der optische Sensor ausschliesslich als integriert optisches (Differential) - Refraktometer betrieben, d.h. sollen nur in der Messsubstanz 3 ablaufende Brechzahl-aenderungen gemessen werden, so entfaellt die Zusatzschicht 5 oder sie ist derart beschaffen, dass eine Adsorption von Molekuelen der Messsubstanz 3 verhindert wird. Beispielseise adsorbieren an ODS (Octadecylsilan) oder an Oberflaechen, die irgend welche Alkylgruppen aufweisen, keine polaren Substanzen. Wasser kann beispielsweise die apolaren

(hydrophoben) Alkylgruppen nicht benetzen. Von diesem Umstand wird reichlich in der Reversed-Phase-Chromatographie Gebrauch gemacht (V. Meyer, Laborbuecher Chemie: Praxis der Hochleistungs-Fluessigchromatographie).

Brechzahlaenderungen einer fluessigen Messsubstanz 3 koennen beispielsweise durch eine in ihr ablaufende (bio)chemische Reaktion zustandekommen. Die Messsubstanz 3 kann aber auch aus einem Festkoerper oder einem poroesen Material bestehen.

Die fuer den selektiven Nachweis notwendige Zusatzschicht 5 oder sogar die wellenleitende Struktur 1 ist so beschaffen, dass sie selektiv nur eine spezifische Substanz, die in der Messsubstanz 3 vorhanden ist, chemisorbiert oder chemisch bindet. Das Chemisorbat bildet eine weitere Schicht 6.

Dieses Selektivitaetsprinzip des optischen Sensors kann unter anderem in der Immunologie dazu benutzt werden, Antigen-Antikoerper-Kopplungen zu identifizieren. Besteht beispielsweise die Zusatzschicht 5 aus einem bestimmten Antigen, so findet genau dann eine Antigen-Antikoerper-Kopplung statt, wenn in der Messsubstanz 3 der dem Antigen entsprechende Antikoerper vorhanden ist. Die chemisorbierte Schicht 6 besteht in diesem Beispiel aus Antikoerpern. Der Bedeckungsgrad der chemisorbierten Schicht 6 haengt von der Konzentration der Antikoerper in der Messsubstanz 3, sowie von der Inkubationsdauer ab. Der vorliegende optische Sensor kann somit beispielsweise zur Bestimmung von Antikoerper-

- 11 -

Konzentrationen verwendet werden, indem beispielsweise der maximale Bedeckungsgrad oder der sich nach einer bestimmten Zeit einstellende stationaere Bedeckungsgrad bestimmt wird.

Die selektive Erkennung unter Biomolekuelen durch das Schluessel-Schloss Prinzip sichert die Organisation und Regulation aller biologischer Systeme und kommt deshalb auch in der Biosensorik zur Anwendung. Komplementaritaet von Biomolekuelen findet man nicht nur bei Antigenen und Antikoerpern sondern auch beispielsweise zwischen Hapten und Antikoerper, Enzym und Enzyminhibitor, Hormon oder Neurotransmitter und Rezeptor, oder zwischen komplementaeren Nukleinsaehren und kann somit auch als Selektivitaetsprinzip fuer den optischen Sensor dienen, wobei jeweils eines der komplementaeren Biomolekuele als Zusatzschicht 5 an den wellenleitenden Film 1 immobilisiert wird und das andere Biomolekuel die Schicht 6 bildet.

Bei einem reversiblen Bindungsverhalten einer spezifischen Substanz an einen Rezeptor, ist im Gleichgewicht die Oberflaechenbelegung, d.h. die Dicke der Schicht 6, von der Konzentration der in der Messsubstanz 3 geloesten spezifischen Substanz abhaengig. Erniedrigt sich beispielsweise die Konzentration dieser Substanz in der Messsubstanz 3, so desorbieren so lange Molekuele dieser Substanz von der Oberflaeche in die Messsubstanz 3, bis der Gleichgewichtszustand wieder erreicht ist. Diese Desorption bedeutet, dass die Dicke der Schicht 6 abnimmt.

Das Schluessel-Schloss Prinzip kann auch in komplizierterer Weise angewendet werden. Bekannt ist die sogenannte Sandwich-Methode, bei der das Schluessel-Schloss Prinzip mehrmals nacheinander ausgeuebt wird (Beispiel: Antikoerper-Antigen-Antikoerper-Kopplung). Bekannt ist auch das sogenannte Kompetitionsverfahren, bei dem zwei verschiedene Sorten von Biomolekuelen meistens unterschiedlichen Molekulargewichts um einen gemeinsamen Bindungsplatz am Rezeptor d.h. an der Zusatzschicht 5 kompetitieren. Erhoeht sich die Konzentration einer Molekuel Sorte in der Messsubstanz 3, so wird die andere Molekuel Sorte von den Bindungsplaetzen an den Rezeptoren teilweise verdraengt (EP 0073980). Diese Desorption fuehrt zu einer nachweisbaren Aenderung der Dicke der Schicht 6. Diese ist wiederum ein Mass fuer die Konzentration der einen Molekuel Sorte, naemlich der nachzuweisenden Substanz.

Eine weitere Moeglichkeit, die Konzentration einer spezifischen Substanz, die in der Messsubstanz 3 enthalten ist, zu bestimmen, liegt darin, dass das dynamische Verhalten des Adsorptions- oder Bindungsvorgangs beobachtet wird. Die Aenderung der Dicke der Schicht 6 als Funktion der Zeit bzw. die Geschwindigkeit, mit der die Schicht 6 zunimmt, geben Auskunft ueber die Konzentration der zu detektierenden spezifischen Substanz (vergleiche hierzu G. Traexler, Medizintechnik 99 (1979), 79-84, J. C. Sternberg, Clin. Chem. 1456 (1977)).

- 13 -

Die Oberflaeche des wellenleitenden Films 1 kann vor der Immobilisierung des Rezeptors vorbeschichtet sein. Beispielsweise kann ein duenner Polymerfilm beispielsweise aus Polystyrol auf den wellenleitenden Film 1 aufgebracht werden, um die Haftung des Rezeptors zu verbessern. Anstelle der Polymerschicht kann auch eine Oxidschicht verwendet werden. Vorzugsweise verwendet man als Oxide jene Materialien wie sie auch in der (Adsorptions-) Chromatographie als sogenannte feste Phase zur Anwendung gelangen. Mit oder ohne chemische Aktivierung der Oxidschicht kann dann in an sich bekannter Weise der Rezeptor immobilisiert werden. Besteht der wellenleitende Film 1 selbst aus einem Oxid, so kann die erwaehte Oxid- oder Polymerbeschichtung unter Umstaenden entfallen. Es besteht auch die Moeglichkeit, die Oxidschicht bzw. den wellenleitenden Film 1 mit reaktiven Silanen zu versehen, die eine noch bessere Immobilisierung ermoeglichen.

Die selektiv chemisorbierende oder chemisch bindende Substanz kann in Form einer Zusatzschicht 5 vorliegen und/oder auch nur in den Mikroporen des wellenleitenden Films 1 vorhanden sein. Im letzten Fall findet die Chemisorption oder chemische Bindung im wellenleitenden Film 1 selbst statt.

Die Zusatzschicht 5 kann auch so beschaffen sein, dass nur die in der Messsubstanz 3 enthaltene und nachzuweisende Substanz in die Zusatzschicht 5 hineindiffundiert. Die Zusatzschicht 5 weist dann ein hohes Loesungsvermoegen fuer

- 14 -

die zu detektierende Substanz auf. Diese Art der Erzeugung der Selektivitaet ist schon lange bekannt und wird bei piezoelektrischen Schwingquarzdetektoren verwendet (vergleiche hierzu USP 3164004). Beispielsweise werden in einem Silikonoelfilm Kohlenwasserstoffe geloest. Bei Adsorption von Kohlenwasserstoffen aendert der mit einem Silikonoelfilm belegte Schwingquarz seine Schwingungsfrequenz (vergleiche hierzu A. Kindlund und I. Lundstroem, Sensors and Actuators 3 (1982/83), 63-77). Die Zusatzschicht 5 kann beispielsweise aus einem solchen Silikonoelfilm bestehen.

Durch die nachzuweisende Substanz in der Zusatzschicht 5 oder im wellenleitenden Film 1 selbst bewirkte chemische Reaktionen koennen auch zu einer Aenderung der Brechzahl und/oder des Lichtabsorptionskoeffizienten (Imaginaerteil der Brechzahl) und/oder der Schichtdicke der betreffenden Schicht fuehren (vergleiche hierzu E.E. Hardy et al., Nature 257 (1975), 666-667 und C. Nylander et al., Sensors and Actuators 3 (1982/83), 79-88). Aber auch in der Messsubstanz 3 ablaufende chemische Reaktionen koennen neben einer Aenderung der Brechzahl mit einer Aenderung des Lichtabsorptionskoeffizienten (z.B. Farbumschlag) der Messsubstanz 3 verbunden sein. Alle Effekte fuehren zu einer Aenderung der effektiven Brechzahl N , die bei einem von Null verschiedenen Lichtabsorptionskoeffizienten zu einer komplexen Groesse wird.

- 15 -

Nach Fig. 2 kann ein Laserstrahl 7 ueber ein Beugungsgitter 4 in einen Wellenleiter 1/2 eingekoppelt werden und in Form einer gefuehrten Lichtwelle 8 den Wellenleiter 1/2 entlanglaufen. Der Laserstrahl 7 kann von der Seite der Messsubstanz her oder mit Vorteil von der Seite des Substrats her auf das Gitter 4 fallen. Als Laser kann beispielsweise ein Helium-Neon Laser, eine kontinuierliche oder gepulste Halbleiter-Laserdiode oder lichtemittierende Diode (LED) mit entsprechender Kollimationsoptik verwendet werden. Die Einkopplungsbedingung hat den Charakter einer Resonanzbedingung. Sie ist dadurch charakterisiert, dass bei konstanter Lichtwellenlaenge des Lasers derjenige Einfallswinkel ω_1 des Laserstrahls 7, mit dem eine maximale Intensitaet des Modes 8 erreicht wird, von der effektiven Brechzahl abhaengt. Die effektive Brechzahl N des angeregten Modes 8 wird im wesentlichen von den Brechzahlen der am Wellenleiter 1/2 beteiligten Medien, von der Brechzahl der Messsubstanz 3, von der Schichtdicke des wellenleitenden Films 1 und von Brechzahl und Schichtdicke der selektiv chemisorbierenden Zusatzschicht 5 und der Chemisorbatschicht 6 bestimmt. Aendert sich durch Einwirkung der Messsubstanz 3 die effektive Brechzahl N der gefuehrten Lichtwelle 8, so ist der urspruenglich gewaehlte Einkopplungswinkel ω_1 nicht mehr optimal, sodass sich die Intensitaet des Modes 8 aendert. Die Aenderung der effektiven Brechzahl N kann nun auf verschiedene Arten gemessen werden.

Bei kleinen effektiven Brechzahlaenderungen kann bei konstantem Einfallswinkel θ_i und konstanter Lichtwellenlaenge - die Aenderung der Lichtintensitaet des gefuehrten Modes 8 mit Hilfe eines Detektors D1 gemessen und damit auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden. Diese Messmethode eignet sich fuer die Messung von effektiven Brechzahlaenderungen, die kleiner sind als die Halbwertsbreite der Resonanzeinkopplungskurve. Die Einkopplungskurve zeigt sowohl in Abhaengigkeit des Einfallswinkels θ_i als auch in Abhaengigkeit der effektiven Brechzahl N ein Resonanzverhalten. Die Halbwertsbreite der Resonanzeinkopplungskurve haengt beugungsbedingt von der Ausdehnung L des Gitters ab (vergleiche hierzu K. Tiefenthaler und W. Lukosz, Optics Letters 9.(1984), 137-139). Beispielsweise bei einer Gitterlaenge $L = 6 \text{ mm}$ und einer Wellenlaenge von 633 nm koennen Aenderungen der Oberflaechenbelegung von einem Hundertstel einer monomolekularen Schicht, beispielsweise einer H_2O -Schicht, und/oder Brechzahlaenderungen der Messsubstanz 3 in der Groessenordnung von $10^{\pm 5}$ aufgeloeset werden, wenn Intensitaetsaenderungen des gefuehrten Modes mit einer Aufloesung von 1% gemessen werden.

Bei effektiven Brechzahlaenderungen, die groesser als die Halbwertsbreite der Resonanzeinkopplungskurve sind, wird die Lichtintensitaet des gefuehrten Modes 8 gemessen und der Einkopplungswinkel θ_i des Laserstrahls 7 so

- 17 -

nachgestellt, dass die Lichtintensitaet stets maximal ist oder zumindest immer den gleichen Wert aufweist. Aus der Aenderung des Winkels α_1 kann auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden. Es besteht auch die Moeglichkeit, den Winkel α_1 aufgrund von Berechnungen derart zu waehlen, dass ein Mode 8 von maximaler Intensitaet erst dann entsteht, wenn die Dicke der Chemisorbatschicht 6 und/oder die Brechzahlaenderung der Messsubstanz 3 einen gewuenschten Wert erreicht haben.

Eine weitere Messmethode nutzt die Tatsache aus, dass der Einfallswinkel α_1 , bei dem der Laserstrahl 7 optimal eingekoppelt wird, von der Lichtwellenlaenge des Lasers abhaengig ist. Die Messmethode besteht nun darin, dass bei konstantem Einfallswinkel α_1 die Lichtwellenlaenge eines abstimmbaren Lasers derart geaendert wird, dass der gefuehrte Mode 8 trotz Aenderung der effektiven Brechzahl, bewirkt durch das Einwirken der Messsubstanz 3, stets maximale bzw. konstante Intensitaet aufweist. Aus der Aenderung der Lichtwellenlaenge kann auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden.

In Fig. 3 ist eine erfindungsgemaesse Messeinrichtung mit einem Gitterauskoppler gezeigt. Wellenleiter 1/2, Beugungsgitter 4 und selektiv chemisorbierende Zusatzschicht 5 sind in Fig. 1 beschrieben. Faellt eine gefuehrte Welle 8 auf das Beugungsgitter 4, so wird das Laserlicht teilweise oder vollstaendig ausgekoppelt. Der ausgekoppelte

- 18 -

Laserstrahl 9 tritt bei konstanter Lichtwellenlänge des Lasers unter einem bestimmten Winkel W_2 , der durch die effektive Brechzahl bestimmt ist, aus dem Wellenleiter 1/2 aus. Die Erzeugung des Modes 8 ist in Fig. 3 nicht eingezeichnet. Der Mode kann beispielsweise durch Stirnflaechenkopplung, Prismeneinkopplung, Gittereinkopplung etc. angeregt werden (vergleiche hierzu T. Tamir, Integrated Optics, Kap. 3). Eine durch Einwirkung der Messsubstanz 3 bewirkte Aenderung der effektiven Brechzahl in der Gitterregion hat eine Aenderung des Auskopplungswinkels W_2 zur Folge. Diese Winkelaenderung kann beispielsweise mit einem Diodenarray oder einem positionsabhaengigen Detektor D2 gemessen werden. Bei kleinen Winkelaenderungen des ausgekoppelten Laserstrahls 9 kann auch mit Hilfe eines Detektors D2, dessen Detektionsflaechе kleiner als der Strahldurchmesser ist, eine Aenderung der auf den Detektor D2 einfallenden Intensitaet des ausgekoppelten Laserstrahls 9 gemessen werden, da sich der ausgekoppelte Laserstrahl 9 waehrend des Messvorgangs ueber den Detektor D2 hinwegbewegt. Aus der Winkelaenderung bzw. der Intensitaetsaenderung kann auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden.

Wird ein abstimmbarer Laser verwendet, so besteht die Moeglichkeit, den Auskopplungswinkel W_2 durch geeignete Wahl der Lichtwellenlaenge trotz der durch die Einwirkung der Messsubstanz 3 bewirkten Aenderungen der effektiven Brechzahl

- 19. -

konstant zu halten. Aus der Aenderung der Lichtwellenlaenge kann wiederum auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden.

In Fig. 4 ist ein sogenannter Bragg-Reflektor gezeigt. Aus Platzgruenden sind in Fig. 4 die selektiv wirkende Zusatzschicht 5 und die Schicht 6 nicht eingezeichnet. Die fuer die Gitterkoppler (Fig. 2 und 3) verwendeten Beugungsgitter koennen auch als Bragg-Reflektoren eingesetzt werden. Eine gefuehrte Lichtwelle 8 wird am Beugungsgitter 4 Bragg-reflektiert, falls die Bragg-Bedingung erfuehlt ist, d.h. falls der Glanzwinkel W_3 dem Bragg-Winkel entspricht (vergleiche hierzu W. Lukosz und K. Tiefenthaler, Optics Letters 8 (1983), 537-539). Fuer die Erzeugung des gefuehrten Modes 8 gilt das gleiche wie das zu Fig. 3 Gesagte. Die Detektoren D3 und D4 messen die Intensitaet eines am Beugungsgitter 4 reflektierten Modes 10 und/oder die Intensitaet des transmittierten Modes 11. Der Braggwinkel W_3 wird durch die effektive Brechzahl N in der Gitterregion festgelegt. Aendert sich die effektive Brechzahl N aufgrund der Einwirkung der Messsubstanz 3, so wird die Bragg-Bedingung gestoert. Die Intensitaeten des reflektierten und transmittierten Modes aendern sich. Durch Messung der Lichtintensitaet des reflektierten Modes 10 und /oder des transmittierten Modes 11 mit den Detektoren D3 und/oder D4 kann auf die Aenderung der effektiven Brechzahl geschlossen werden.

Es besteht auch die Moeglichkeit, den Winkel θ_3 derart zu waehlen, dass die Bragg-Bedingung gerade nicht erfuehlt und somit kein reflektierter Mode 10 vorhanden ist. Hat die effektive Brechzahlaenderung einen gewuenschten Wert erreicht, tritt ein reflektierter Mode 10 auf, da die Bragg-Bedingung dann erfuehlt ist.

Eine andere Messmethode macht sich die Abhaengigkeit der Bragg-Bedingung von der Lichtwellenlaenge zunutze. Trotz der durch die Einwirkung der Messsubstanz 3 bedingten effektiven Brechzahlaenderung kann die Bragg-Bedingung eingehalten werden, indem die Lichtwellenlaenge des Lasers entsprechend gewaehlt wird. Die Aenderung der effektiven Brechzahl wird dann aus der Aenderung der Lichtwellenlaenge ermittelt.

Der Bragg-Reflektor kann insbesondere auch mit einem Glanzwinkel θ_3 von 90 Grad betrieben werden. Der gefuehrte Mode 8 wird dann retroreflektiert. Dies hat unter anderem den Vorteil, dass der reflektierte Mode seine urspruengliche Breite beibehaelt und nicht aufgefaechert wird. Auch kann anstelle eines planaren wellenleitenden Films ein Streifenwellenleiter verwendet werden.

Als Bragg-Reflektor kann speziell das in der Beschreibung zu Fig. 1 erwaehnte Beugungsgitter mit ortsabhaengiger Modulation verwendet werden, insbesondere ein Beugungsgitter, das aus zwei stark modulierten Gitterbereichen besteht, die durch einen weniger stark modulierten Bereich voneinander getrennt sind. Die

- 21 -

Zusatzschicht 5 kann sich gegebenenfalls nur auf dem schwach modulierten Gitterbereich befinden. Dieses beschriebene Gitter kann nicht nur als Bragg-Reflektor, sondern auch als Gitterein- oder Gitterauskoppler verwendet werden. Bei Verwendung dieses Gitters als Gitterauskoppler tritt auf dem Detektor D2 in Fig. 3 ein Streifensystem auf. Bei Verwendung dieses Gitters als Gittereinkoppler weist der Einkopplungswirkungsgrad als Funktion der effektiven Brechzahl N oder des Einfallswinkels θ_i einige Maxima und Minima auf. Bei Verwendung dieses Gitters als Bragg-Reflektor weist das Transmissions- und Reflexionsvermögen als Funktion der effektiven Brechzahl einige Maxima und Minima auf.

In den Figuren 1-8 ist der wellenleitende Film 1 als planare Struktur eingezeichnet. Es gibt jedoch noch andere Strukturen, in denen Lichtwellenleitung hervorgerufen werden kann. Beispielsweise kann anstatt des planaren wellenleitenden Films 1 ein Streifenwellenleiter verwendet werden. Der wellenleitende Film 1 liegt dann nur in Form eines Streifens vor. Der Streifen kann sich sowohl auf dem Substrat befinden als auch in das Substrat (aber nahe der Oberfläche) eingebettet sein. Die Brechzahl des Streifens ist höher als die der Umgebungsmaterialien. Die geführte Lichtwelle 8 wird dann in beiden Ortskoordinaten senkrecht zur Ausbreitungsrichtung durch Totalreflexion geführt.

Durch Lichtstreuung oder Lichtabsorption an der Messsubstanz 3 und/oder an adsorbierten Makromolekülen, beispielsweise

- 22 -

Proteinen, kann der Mode nach Verlassen der Gitterregion so stark geschwaecht werden, dass eine Messung der Lichtintensitaet nicht mehr moeglich ist. Um diesen stoerenden Effekt zu verhindern, ist es vorteilhaft, - wie in Fig. 5 gezeigt - den wellenleitenden Film 1 ausserhalb der Gitterregion mit einer Schutzschicht 12 zu bedecken. Diese Schutzschicht 12, die eine genuegend kleine Brechzahl haben muss, kann beispielsweise eine SiO_2 -Schicht sein. Die Schichtdicke der Schutzschicht 12 muss so gross gewaehlt werden, dass ausserhalb der Gitterregion der Mode mit der Messsubstanz 3 nicht mehr wechselwirkt, weil sein quergedaempftes Feld hinreichend stark abgefallen ist. Die Schutzschicht 12 kann auch dazu verwendet werden, den stoerenden Einfluss der Befestigungseinrichtung einer in der Figur 6 eingezeichneten Kuevette 13 auf den gefuehrten Mode zu verhindern.

In Fig. 6 ist eine gegenueber Fig. 5 erweiterte Anordnung mit einer Membran 14 zu sehen, die sowohl Selektivitaet als auch Stabilitaet des optischen Sensors verbessert. Mit der Membran 14 wird erreicht, dass nur eine "gefilterte" Messsubstanz 15 mit der wellenleitenden Struktur 1 bzw. der Zusatzschicht 5 in Kontakt kommt, d. h. es soll in der "gefilterten" Messsubstanz 15 neben einem Loesungsmittel bzw. einer Pufferloesung nur jene spezifische Substanz vorhanden sein, die es nachzuweisen gilt. Dies wird dadurch erreicht, dass die Messsubstanz 3 auf eine gegebenenfalls

- 23 -

von einer Kuevette 13 getragene Membran 14 aufgebracht wird, die aus der Messsubstanz 3 nur die nachzuweisende Substanz durchdiffundieren laesst, die restlichen nicht nachzuweisenden Substanzen aber zurueckhaelt.

Weist die Membran eine genuegend hohe Selektivitaet auf, so kann die Zusatzschicht 5 eventuell entfallen. Es findet in diesem Fall eine unspezifische Ad- oder Chemisorption an der wellenleitenden Struktur 1 statt. Messsubstanz 3 und "gefilterte" Messsubstanz 15 koennen entweder fluessig oder gasfoermig sein.

Es besteht auch die Moeglichkeit, den wellenleitenden Film 1 oder die Zusatzschicht 5 direkt mit einer (biologischen) Membran zu beschichten. Die Rezeptoren koennen nicht nur in Form einer Zusatzschicht 5 vorliegen, sondern auch als Implantat in der Membran selbst vorhanden sein.

Ist die Membran genuegend bestaendig, wie beispielsweise eine Glasmembran, so kann die Membran die Funktion des Substrats uebernehmen. In diesem Fall wird die Membran gegebenenfalls zuerst mit einer Zusatzschicht 5 und dann mit einem wellenleitenden Film 1 beschichtet. Die Messsubstanz wird jetzt auf das Membran-Substrat aufgebracht.

In Fig. 2 und 4 sind Detektoren eingezeichnet, die die Intensitaet der gefuehrten Wellen 8 bzw. 10 und 11 direkt messen. Es besteht aber auch die Moeglichkeit, eine gefuehrte Lichtwelle beispielsweise mit einem zweiten Gitter zuerst auszukoppeln und dann die Intensitaet des

- 24 -

ausgekoppelten Laserstrahls mit einem Detektor zu messen. Diese Intensitaet ist proportional zur Intensitaet der gefuehrten Welle. Der Auskopplungsmechanismus des zweiten Gitters darf von der Messsubstanz 3 nicht gestoert werden. Dies kann beispielsweise erreicht werden, indem in der Region des zweiten Gitters eine Schutzschicht den Wellenleiter von der Messsubstanz 3 trennt oder in dieser Gitterregion ueberhaupt keine Messsubstanz 3 vorhanden ist (Naeheres zur Schutzschicht vergleiche Erlaeuterungen zu Fig. 5). Die Auskopplung kann aber auch ueber einen Prismenkoppler oder einen Taper erfolgen (vergleiche hierzu T. Tamir, Integrated Optics, Kap. 3).

Eine weitere Detektionsmoeglichkeit ist in Fig. 7 beschrieben. Im Gegensatz zu der Anordnung gemass Fig. 2 wird die Intensitaet der gefuehrten Lichtwelle 8 nicht direkt gemessen sondern das vom Mode 8 erzeugte Streulicht 16 wird mit einer Faseroptik 17 aufgefangen und dem Detektor D5 zugefuehrt. Die Intensitaet des Streulichtes 16 ist proportional zur Intensitaet des Modes 8. Das Streulicht 16 ist aufgrund von nicht vermeidbaren Inhomogenitaeten des Wellenleiters 1/2 stets vorhanden. In gleicher Weise kann beim Bragg-Reflektor (Fig. 4) anstatt der direkten Messung der Intensitaet der gefuehrten Wellen 10 und/oder 11 die Intensitaet des Streulichtes des reflektierten Modes 10 und/oder des transmittierten Modes 11 gemessen werden.

In Fig. 8 ist eine weitere indirekte Detektionsmoeglichkeit

- 25 -

dargestellt. Trifft ein Laserstrahl 7 auf ein Beugungsgitter 4, so treten verschiedene Beugungsordnungen auf, und zwar in Reflexion als auch in Transmission. Ist der Winkel θ_1 richtig gewaehlt, so wird der Laserstrahl 7 ueber eine und nur eine Beugungsordnung in den wellenleitenden Film 1 eingekoppelt. Nach dem Energieerhaltungssatz fehlt dann diese eingekoppelte Leistung in den uebrigen Beugungsordnungen. Theorie und Experiment zeigen, dass im Falle der Einkopplung des Laserstrahls 7 in den wellenleitenden Film 1 unter bestimmten Voraussetzungen eine Verstaerkung der Intensitaet in gewissen nicht eingekoppelten Beugungsordnungen auftritt. Daher koennen Aenderungen der Intensitaet des gefuehrten Modes 8 auch dadurch gemessen werden, dass man die Aenderungen der Intensitaet einer oder mehrerer nicht eingekoppelter Beugungsordnungen 18-21 mit den Detektoren D6 - D9 misst. In Fig. 8 bedeuten der reflektierte Strahl 18 die nullte reflektierte Beugungsordnung, der transmittierte Strahl 19 die nullte transmittierte Beugungsordnung, d.h. das unabgebeugt durchgehende Licht. Die Strahlen 20 und 21 sind Beugungsordnungen hoeherer Ordnung in Reflexion bzw. in Transmission. Auch beim Bragg-Reflektor (Fig. 4) treten neben den Moden 10 und 11 unter gewissen Bedingungen noch andere Beugungsordnungen auf, die in den Raum frei abgestrahlt werden und deren Intensitaeten deshalb leicht detektierbar sind.

- 26 -

Die Empfindlichkeit des integriert optischen Sensors ist dann besonders gross, wenn bei vorgegebener einwirkender Messsubstanz 3 die Änderung der effektiven Brechzahl möglichst gross ist. Aus der Theorie folgt, dass besonders hohe Empfindlichkeiten dann erreicht werden, wenn der wellenleitende Film 1 eine wesentlich höhere Brechzahl hat als das Substrat 2 und die Messsubstanz 3, und wenn die Schichtdicke des wellenleitenden Films 1 etwas grösser als die Mindestschichtdicke gewählt wird. Eine Mindestschichtdicke (sog. cut-off-Schichtdicke) des wellenleitenden Films 1 ist erforderlich, um überhaupt eine geführte Welle im wellenleitenden Film 1 anregen zu können (vergleiche hierzu T. Tamir, Integrated Optics, Springer, Berlin 1979, Kap. 2). Damit möglichst hohe Empfindlichkeiten erreicht werden, empfiehlt es sich, die Brechzahl des wellenleitenden Films 1 mindestens 1%, vorzugsweise mehr als 10% grösser als diejenige des Substrats 2 bzw. der Messsubstanz 3 zu wählen. Nur wenn Brechzahländerungen einer Messsubstanz 3 gemessen werden, deren Brechzahl grösser als die des Substrats 2 ist, so ist fuer die Erreichung einer hohen Empfindlichkeit der hohe Brechzahlunterschied zwischen wellenleitendem Film 1 und Substrat 2 bzw. Messsubstanz 3 unwesentlich.

Wenn die Empfindlichkeiten aus der Theorie bekannt sind, kann aus gemessenen effektiven Brechzahländerungen eines geführten Modes entweder auf den Zustand des Adsorptions-

- 27 -

bzw. Desorptionsprozesses, insbesondere auf die Aenderung der Schichtdicke der Chemisorbatschicht 6, oder auf die Brechzahlaenderung der Messsubstanz 3 geschlossen werden.

Sollen mit dem optischen Sensor sowohl die Schichtdickenaenderung der Chemisorbatschicht 6 als auch die Brechzahlaenderung der Messsubstanz 3 gleichzeitig bestimmt werden, so muessen gleichzeitig die effektiven Brechzahlaenderungen zweier verschiedener gefuehrter Moden gemessen werden. In dem Fall, dass das Feld des gefuehrten Modes in der Adsorbatschicht 6 quergedaempft (evaneszent) ist, muss die Dicke der Schicht 6 kleiner als die sogenannte Eindringtiefe sein, damit Brechzahlaenderungen der Messsubstanz 3 gemessen werden koennen.

Fuer die gleichzeitige Anregung zweier verschiedener Moden gleicher Wellenlaenge muessen im Fall des Gittereinkopplers (Fig. 2) jedoch zwei Laserstrahlen unter verschiedenen Einfallswinkeln gleichzeitig auf das Beugungsgitter 4 fallen. Auch wenn nur ein Laser zur Verfuegung steht, kann diese Bedingung erfuehrt werden, indem eine geeignete Strahlteilungsoptik verwendet wird.

Die gleichzeitige Messung von Intensitaetsaenderungen zweier verschiedener Moden kann ueber nicht eingekoppelte Beugungsordnungen oder ueber die durch eine zweite Kopplungstechnik ausgekoppelte Wellen erfolgen, da sich die im Raum frei ausbreitenden Wellen, die verschiedenen Moden zuzuordnen sind, winkelmassig voneinander unterscheiden und deshalb

getrennt detektierbar sind.

Ist jedoch absolute Gleichzeitigkeit fuer die beiden Intensitaetsmessungen nicht erforderlich, so kann am Ende des Wellenleiters $1/2$ eine direkte Intensitaetsmessung der beiden Moden im Multiplex-Verfahren erfolgen, indem einmal der den einen Mode anregende einfallende Laserstrahl abgedeckt wird, und umgekehrt. Bei sehr langsamen Vorgaengen ist es auch zulaessig, die beiden gefuehrten Moden mit einem einzigen einfallenden Laserstrahl nacheinander anzuregen, indem nacheinander die entsprechenden Einfallswinkel eingestellt und gemessen werden.

Es besteht aber auch die Moeglichkeit, die beiden Einfallswinkel beispielsweise derart zu waehlen, dass sich die beiden gefuehrten Moden in entgegengesetzter Richtung im Wellenleiter $1/2$ ausbreiten. Die beiden Intensitaetsaenderungen koennen dann mit zwei oertlich voneinander getrennten Detektoren gleichzeitig und direkt registriert werden.

Gleichzeitige Messung von effektiven Brechzahlaenderungen zweier gefuehrter Moden kann aber auch nur mit einem einzigen einfallenden Laserstrahl erfolgen, der aber spektral aus zwei separaten (abstimbaren) Wellenlaengen besteht, sodass die beiden verschiedenen Moden, die sich zusaetzlich noch in der Wellenlaenge unterscheiden, im Wellenleiter $1/2$ gleichzeitig angeregt werden koennen.

Sollen sowohl Schichtdickenaenderung der Chemisorbatschicht

- 29 -

6 als auch Brechzahlaenderung der Messsubstanz 3 mit einem Gitterauskoppler oder Bragg-Reflektor bestimmt werden, so muessen gleichzeitig zwei verschiedene Moden aus dem Wellenleiter 1/2 ausgekoppelt bzw. am Gitter 4 Bragg-reflektiert werden.

Um bei den Intensitaetsmessungen eine hohe Messgenauigkeit erzielen zu koennen, ist ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhaeltnis erforderlich. Fluktuationen der Laserleistung beeintraehtigen die Messgenauigkeit. Dieses Rauschen kann dadurch eliminiert werden, dass ein Teil des Lichts des einfallenden Laserstrahls irgendwo vor dem Beugungsgitter 4, ueber einen Strahlteiler ausgespiegelt wird, einem Referenzdetektor zugefuehrt wird und dann das Verhaeltnis von Messsignal durch Referenzsignal gebildet wird.

Das Signal-zu-Rausch-Verhaeltnis kann auch durch die Verwendung der bekannten Lock-in-Technik verbessert werden. Bei dieser wird das auf das Beugungsgitter 4 auffallende Laserlicht moduliert. Dazu wird entweder das Licht eines CW-Lasers mit einem Chopper moduliert oder es wird beispielsweise eine gepulste Laserdiode oder lichtemittierende Diode (LED) als Lichtquelle eingesetzt.

Fuer ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhaeltnis ist ferner notwendig, dass der Beleuchtungsfleck auf dem Beugungsgitter 4, d.h. jene Flaechen, die beispielsweise im Falle des Gittereinkopplers vom Laserstrahl 7 beleuchtet wird, oertlich stabil bleibt. Dies kann erreicht werden, indem ein

- 30 -

Laser mit moeglichst hoher Strahlwinkelstabilitaet ausgewaehlt wird und dieser moeglichst nahe an das Beugungsgitter herangefahren wird oder indem zwischen Laser und Beugungsgitter 4 eine Linse eingebaut wird, die die Ebene der Strahleinschnuerung auf das Beugungsgitter 4 abbildet. Die Strahlwinkelstabilitaet hat auch direkt einen Einfluss auf den Einfallswinkel θ_1 . Laser mit hoher Strahlwinkelstabilitaet erhoehen die Messgenauigkeit des optischen Sensors, da der Einfallswinkel θ_1 genauer definiert ist.

Da das elektromagnetische Feld der gefuehrten Lichtwelle als quergedaempfte Welle mit der Messsubstanz 3 wechselwirkt und dementsprechend um weniger als eine Lichtwellenlaenge weit in die Messsubstanz 3 eindringt, koennen Brechzahländerungen an sehr geringen Messsubstanzmengen bestimmt werden. Wird das Beugungsgitter 4 ueber die gesamte Laenge L beleuchtet und hat der Beleuchtungsfleck parallel zu den Gitterstrichen eine Ausdehnung von 0.1 mm , so betraegt fuer $L = 2 \text{ mm}$ und fuer eine Lichtwellenlaenge von 500 nm das Mindestmessvolumen $V = 2 \text{ mm} * 0.1 \text{ mm} * 500 \text{ nm} = 0.1 \text{ NanoLiter}$

Da der optische Sensor sehr empfindlich sowohl auf Brechzahländerungen der Messsubstanz 3 als auch auf Adsorption von spezifischen Molekuelen der Messsubstanz 3 reagiert und da das Mindestmessvolumen sehr gering ist, draengt sich ein Einsatz des optischen Sensors als Detektor beispielsweise in der Fluessigkeits-, Gas- und Affinitaets-

- 31 -

chromatographie auf.

Da der optische Sensor aus wenigen (passiven) Elementen, die auf einem Substrat integriert sind, besteht, wird er billig herstellbar sein und damit beispielsweise in der Biosensorik und medizinischen Diagnostik als Einwegsensoren verwendet werden koennen.

Ein weiterer Vorteil der beschriebenen optischen Sensoren besteht darin, dass mehrere davon auf einem Substrat angebracht werden koennen. Diese Sensoren koennen verschiedene Zusatzschichten 5 und/oder Membranen 14 aufweisen und damit fuer verschiedene nachzuweisende Substanzen selektiv empfindlich sein. Die verschiedenen Sensoren koennen von einem Laser entweder gleichzeitig oder nacheinander abgefragt werden.

PATENTANSPRUECHE

01. Optischer Sensor zum selektiven Nachweis von Substanzen und/oder zum Nachweis von Brechzahländerungen in gasförmigen, flüssigen, festen oder porösen Messsubstanzen, dadurch gekennzeichnet, dass er aus einer an der Oberfläche eines Substrats (2) vorhandenen wellenleitenden Struktur (1) aufgebaut ist, welche mit einem als Gitterkoppler oder Bragg-Reflektor dienenden Beugungsgitter (4) und gegebenenfalls mit einer wenigstens im Gitterbereich vorhandenen Zusatzschicht (5) und/oder Membran (14) versehen ist, und dass die Messsubstanz (3) zumindest im Gitterbereich entweder direkt auf die wellenleitende Struktur (1) oder auf die Zusatzschicht (5) oder auf die Membran (14) oder auf das Substrat (2) aufbringbar ist.

02. Optischer Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) aus einem planaren wellenleitenden Film besteht.

03. Optischer Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) streifenförmig ausgebildet ist und nur einen Teil der Breite des Substrats (2) in Anspruch nimmt.

- 33 -

04. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Brechzahl der wellenleitenden Struktur (1) zur Erreichung hoher Empfindlichkeiten mindestens 1%, vorzugsweise jedoch mehr als 10% grösser als diejenige des Substrates (2) gewählt wird.

05. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) aus einer Oxidschicht und/oder einer Polymerschicht besteht.

06. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) zumindest im Gitterbereich Mikroporen aufweist.

07. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat (2) zumindest im Gitterbereich mikroporös ist und/oder eine Membran ist.

08. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) und/oder die Zusatzschicht (5) derart beschaffen sind, dass sie selektiv die in der Messsubstanz (3) enthaltene und nachzuweisende Substanz durch Physisorption, Chemisorption oder chemische Bindung fest oder reversibel an sich binden.

- 34 -

09. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusatzschicht (5) aus Molekuelen eines spezifisch bindenden biologischen Rezeptors, insbesondere eines Antigens, besteht und selektiv die in der Messsubstanz (3) enthaltenen und dem Rezeptor komplementaeren Biomolekuele, insbesondere die diesem Antigen entsprechenden Antikoerper bindet.

10. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusatzschicht (5) aus Rezeptoren, insbesondere biologischen Rezeptoren aufgebaut ist, und dass die wellenleitende Struktur (1) zwecks Immobilisierung dieser Zusatzschicht (5) entweder mit einer Oxidschicht oder einer Polymerschicht oder einer Silanisierungsschicht vorbeschichtet ist.

11. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) und/oder die Zusatzschicht (5) derart beschaffen sind, dass sie selektiv durch die in der Messsubstanz (3) enthaltene und nachzuweisende Substanz chemisch veraenderbar sind.

12. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) und/oder die Zusatzschicht (5) ein hohes Loesungsvermoegen fuer die in der Messsubstanz (3) enthaltene und nachzuweisende Substanz aufweist.

- 35 -

13. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) und/oder die Zusatzschicht (5) Molekuele enthalten, die durch die nachzuweisende Substanz desorbierbar sind.

14. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass sich die Zusatzschicht (5) auf der wellenleitenden Struktur (1) oder, wenn die wellenleitende Struktur (1) und/oder das Substrat (2) poroes sind, zwischen der wellenleitenden Struktur (1) und dem Substrat (2) befindet.

15. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) mikroporoes ist und dass die Zusatzschicht (5) die Poren ganz oder teilweise ausfuellt.

16. Optischer Sensor nach Anspruch 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass sich zwischen der Messsubstanz (3) und der wellenleitenden Struktur (1) eine nur die nachzuweisende Substanz durchlassende Membran (14) befindet.

17. Optischer Sensor nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass sich zwischen der Membran (14) und der wellenleitenden Struktur (1) mit oder ohne Zusatzschicht (5)

eine Loesung (15) befindet.

18. Optischer Sensor nach Anspruch I bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) und/oder die Zusatzschicht (5) derart beschaffen sind, dass zum ausschliesslichen Nachweis von Brechzahlaenderungen eine Adsorption von Molekuelen verhindert wird.

19. Optischer Sensor nach Anspruch I bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die wellenleitende Struktur (1) ausserhalb der Gitterregion mit einer Schutzschicht (12) bedeckt ist, welche eine Beeinflussung des gefuehrten Modes ausserhalb der Gitterregion durch die Messsubstanz (3) verhindert.

20. Optischer Sensor nach Anspruch I bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Beugungsgitter (4) ein entweder in die wellenleitende Struktur (1) oder in das Substrat (2) eingepraegtes Oberflaechenreliefgitter ist.

21. Optischer Sensor nach Anspruch I bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass das Beugungsgitter (4) eine in Richtung senkrecht zu den Gitterstrichen ortsabhaengige Modulation aufweist, insbesondere aus zwei staerker modulierten Gitterbereichen besteht, welche durch einen weniger stark modulierten Bereich getrennt sind.

22. Optischer Sensor nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusatzschicht (5) sich nur auf dem schwach modulierten Gitterbereich befindet.

23. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Physi- oder Chemisorptionsprozesse oder chemischen Bindungen und/oder durch die in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte Aenderungen der effektiven Brechzahl des in der aus Substrat (2), wellenleitender Struktur (1), Zusatzschicht (5) und Messsubstanz (3) bestehenden Anordnung gefuehrten Modes gemessen werden.

24. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration einer spezifischen Substanz, die in der Messsubstanz (3) enthalten ist, bestimmt wird, indem entweder die maximale Aenderung und/oder der sich nach einer bestimmten Zeit einstellende stationaere Endwert der Aenderung der effektiven Brechzahl bestimmt werden.

25. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration

- 38 -

oder Konzentrationsaenderung einer spezifischen Substanz, die in der Messsubstanz (3) enthalten ist, bestimmt wird, indem der zeitliche Verlauf der effektiven Brechzahlaenderung verfolgt und insbesondere die Geschwindigkeit, mit der sich die effektive Brechzahl aendert, bestimmt wird.

26. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass zur gleichzeitigen Bestimmung von Schichtdickenaenderung der Adsorbatschicht (6) und von Brechzahlaenderung der Messsubstanz (3) die Aenderungen der effektiven Brechzahlen von zwei verschiedenen gefuehrten Moden gleichzeitig oder im Multiplex-Verfahren gemessen werden.

27. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass ein Laserstrahl (7), der unter dem fest gewaehlten Winkel (θ_1) auf das Beugungsgitter (4) gerichtet wird, ueber dieses Gitter (4) in die wellenleitende Struktur (1) eingekoppelt wird und dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte Aenderungen der effektiven Brechzahl bestimmt werden, indem die Aenderung der Intensitaet des eingekoppelten Modes (8) und/oder die Aenderung der

- 39 -

Intensitaet einer oder mehrerer sich im Raum frei ausbreitenden nicht eingekoppelten Beugungsordnungen (18-21) gemessen werden.

28. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass der Einfallswinkel (θ_1), unter dem der Laserstrahl (7) auf das Beugungsgitter (4) gerichtet wird, waehrend der an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder der in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen so nachjustiert wird, dass der eingekoppelte Mode (8) die groesst moegliche oder zumindest immer die gleiche Intensitaet hat und/oder eine oder mehrere nicht eingekoppelte Beugungsordnungen (18-21) die groesst moegliche oder zumindest immer die gleiche Intensitaet haben, sodass die Aenderung der effektiven Brechzahl aus der Aenderung des Einfallswinkels (θ_1) bestimmt werden kann.

29. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass bei festem Einfallswinkel (θ_1) die Lichtwellenlaenge des Lasers waehrend der an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder der in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen derart abgestimmt wird, dass der eingekoppelte Mode (8) die groesst

- 40 -

moegliche oder zumindest immer die gleiche Intensitaet hat und/oder eine oder mehrere nicht eingekoppelte Beugungsordnungen (18-21) die groesst moegliche oder zumindest immer die gleiche Intensitaet haben, sodass die Aenderung der effektiven Brechzahl aus der Aenderung der Lichtwellenlaenge bestimmt wird.

30. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass der gefuehrte Mode (8) durch das Beugungsgitter (4) aus der wellenleitenden Struktur (1) ausgekoppelt wird und dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder die in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte Aenderungen der effektiven Brechzahl bestimmt werden, indem die Aenderung des Auskopplungswinkels (θ_2) gemessen wird oder bei festem Winkel (θ_2) die Intensitaetsaenderung des ausgekoppelten Laserstrahls (9) registriert wird.

31. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass der gefuehrte Mode (8) durch das Beugungsgitter (4) aus der wellenleitenden Struktur (1) ausgekoppelt wird und dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder die in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte

- 41 -

Änderungen der effektiven Brechzahl bestimmt werden, indem durch Abstimmung der Lichtwellenlänge des Lasers der Auskopplungswinkel (W2) konstant gehalten wird.

32. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass ein gefuehrter Mode (8) unter dem Winkel (W3) auf das Beugungsgitter (4) gerichtet wird und am Gitter (4) Bragg-reflektiert wird und dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder die in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte Aenderungen der effektiven Brechzahl bestimmt werden, indem die Intensitaetsaenderung des reflektierten Modes (10) und/oder des transmittierten Modes (11) gemessen wird.

33. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass ein gefuehrter Mode (8) unter dem Winkel (W3) auf das Beugungsgitter (4) gerichtet wird und am Gitter (4) Bragg-reflektiert wird und dass durch die an der wellenleitenden Struktur (1) und/oder der Zusatzschicht (5) ablaufenden Prozesse und/oder die in der Messsubstanz (3) ablaufenden Brechzahlaenderungen bewirkte Aenderungen der effektiven Brechzahl bestimmt werden, indem die Lichtwellen-laenge des Lasers derart abgestimmt wird, dass der gefuehrte Mode (8)

- 42 -

mit groeest moeglicher oder zumindest immer mit gleicher Intensitaet Bragg-reflektiert wird.

34. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 27 bis 29 und 32 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Intensitaet der gefuehrten Moden (8) bzw. (10) und (11) entweder direkt gemessen wird, indem

a) die am Ende der wellenleitenden Struktur (1) austretende Intensitaetsverteilung des gefuehrten Modes auf einen der Detektoren (D1) bzw. (D3) und (D4) faellt

b) der gefuehrte Mode mit einer Kopplungstechnik, insbesondere einem Gitter- oder Prismenkoppler aus der wellenleitenden Struktur (1) ausgekoppelt und die ausgekoppelte Lichtintensitaet mit einem Detektor gemessen wird

oder indirekt gemessen wird, indem

a) das vom gefuehrten Mode erzeugte Streulicht (16) beispielsweise mit einer Faseroptik (17) aufgefangen und einem Detektor (D5) zugefuehrt wird

b) im Falle des Anspruchs 27 bis 29 die Lichtintensitaeten einer oder mehrerer nicht eingekoppelter Beugungsordnungen (18-21) mit den Detektoren (D6-D9) gemessen werden.

35. Verfahren zum Betreiben des optischen Sensors nach Anspruch 27 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass, um ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhaeltnis zu erhalten,

- 43 -

eine oder mehrere der folgenden messtechnischen Modifikationen getroffen werden:

- a) Einen Laser mit moeglichst hoher Strahlwinkelstabilitaet zu verwenden
- b) Zwischen Laser und jener Stelle, an der der Laserstrahl in die wellenleitende Struktur (1) eingekoppelt wird, eine Linse einzusetzen
- c) In den Strahlengang zwischen Laser und Beugungsgitter (4) einen Strahlteiler einzusetzen, um einen Referenzstrahl zu erzeugen
- d) In den Strahlengang zwischen Laser und Beugungsgitter (4) einen rotierender Chopper, der den unmodulierten Laserstrahl moduliert, einzusetzen
- e) Als Laser eine gepulste Laserdiode oder lichtemittierende Diode (LED) zu verwenden.

Fig. 1

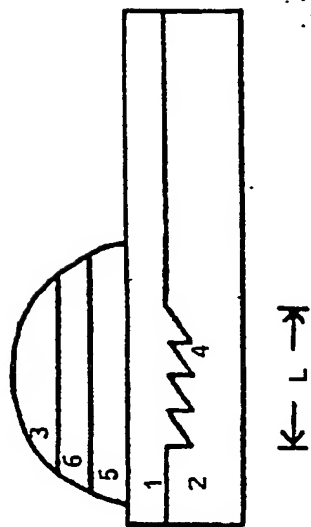


Fig. 2

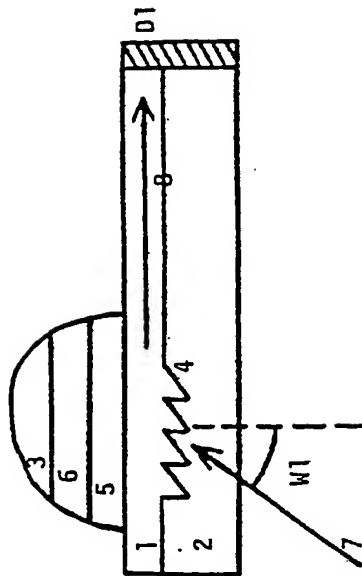


Fig. 3

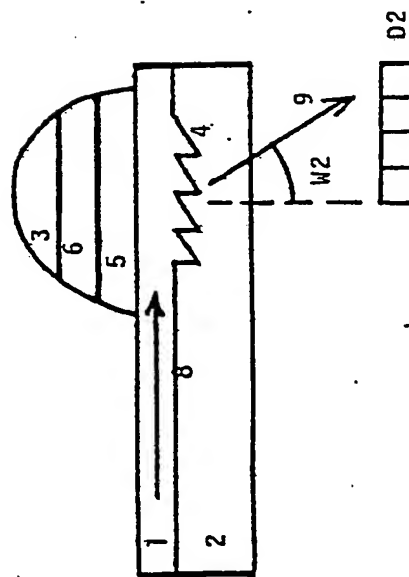


Fig. 4

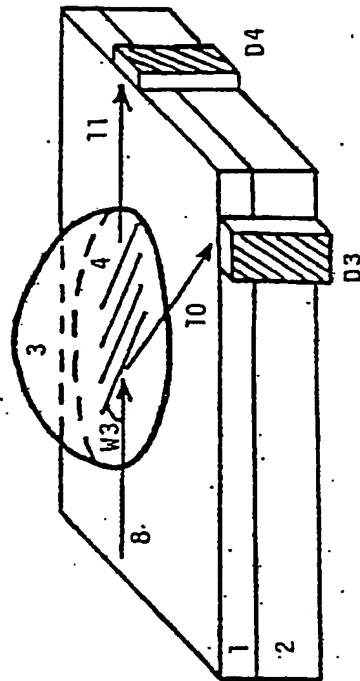


Fig. 5

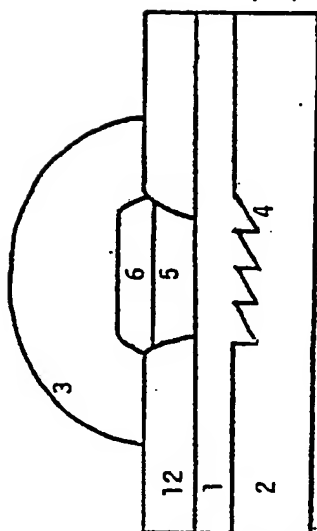


Fig. 6

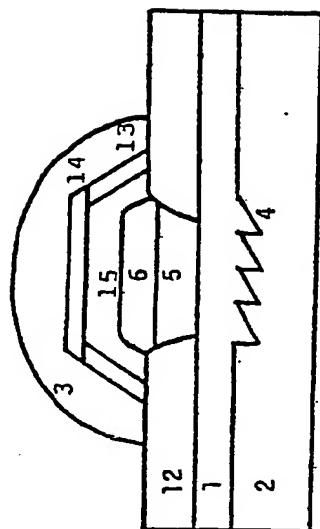


Fig. 7

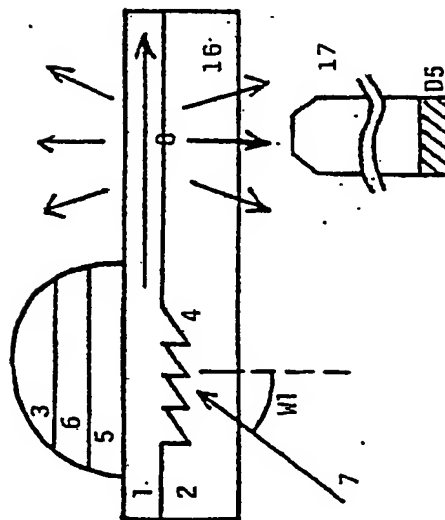
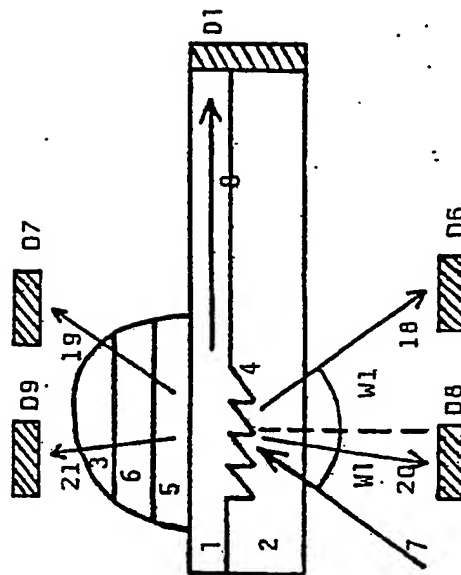


Fig. 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/CH 86/00072

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) *		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl. ⁴ : G 01 N 21/41; G 01 N 21/75; G 01 N 33/53		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched *		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl. ⁴ : G 01 N 21/41; G 01 N 21/43; G 01 N 21/77		
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *		
Category *	Citation of Document, ** with indication, where appropriate, of the relevant passages **	Relevant to Claim No. **
X	Optics Letters, Vol. 10, No. 4, April 1984, New York, N.Y. (US) K. Tiefenthaler et al.: "Integrated optical switches and gas sensors", pages 137-139, see page 137	1, 2, 4, 5, 8, 20, 23-25, 28, 30, 34
A	Analytical Chemistry, Vol. 54, No. 9, August 1982, Columbus, Ohio (US) I. Chabay: "Optical Waveguides", pages 1071A-1080A, see page 1078A, left and central column	1, 2, 8, 23
A	Optics Letters, Vol. 8, No. 10, October 1983 New York, N.Y. (US) W. Lukosz et al.: "Embossing technique for fabricating integrated optical components in hard inorganic waveguiding materials", pages 537-539, see page 537, left column	1, 4, 5
<p>* Special categories of cited documents: 10</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"A" document member of the same patent family</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
19 August 1986 (19.08.86)		08 October 1986 (08.10.86)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
European Patent Office		

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		
Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
A	Clinical Chemistry, Vol. 30, No. 9, September 1984, Winston-Salem, NC (US) R.M. Sutherland et al.: "Optical detection of antibody-antigen reactions at a glass-liquid interface", pages 1533-1538, see page 1535, left column from "Microscope slide", right column to "acid-washing procedure"; figures 2,3	1,8-11
A	US, A, 4344438 (J. SCHULTZ) 17 August 1982, see columns 26-44; figure 5 (cited in the application)	1,16
A	US, A, 3856404 (A. HERSHNER) 24 December 1974, see column 1, lines 53-68; column 6, lines 37-61	1,7
A	WO, A, 81/00912 (R. BUCKLES) 2 April 1981, see page 5; page 6, lines 1-10	1,6,7

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON

INTERNATIONAL APPLICATION NO.

PCT/CH 86/00072 (SA 13284)

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 15/09/86

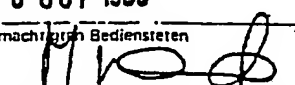
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A- 4344438	17/08/82	None	
US-A- 3856404	24/12/74	FR-A- 2235626	24/01/75
		DE-A- 2351621	02/01/75
		GB-A- 1422437	28/01/76
		JP-A- 50033881	01/04/75
WO-A- 8100912	02/04/81	EP-A- 0036017	23/09/81
		US-A- 4321057	23/03/82
		US-A- 4399099	16/08/83
		CA-A- 1154827	04/10/83

For more details about this annex :
see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/CH 86/00072

I. KLASSEFIZIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationsymbolen sind alle anzugeben) ⁵		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int. Cl. ⁴ G 01 N 21/41; G 01 N 21/75; G 01 N 33/53		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationsymbole	
Int. Cl. ⁴	G 01 N 21/41; G 01 N 21/43; G 01 N 21/77	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹		
Art [*]	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	Optics Letters, Band 10, Nr. 4, April 1984, New York, N.Y. (US) K. Tiefenthaler et al.: "Integrated optical switches and gas sensors", Seiten 137-139, siehe Seite 137	1, 2, 4, 5, 8, 20, 23-25, 28, 30, 34
A	Analytical Chemistry, Band 54, Nr. 9, August 1982, Columbus, Ohio (US) I. Chabay: "Optical Waveguides", Seiten 1071A-1080A, siehe Seite 1078A, linke und mitte Spalte	1, 2, 8, 23
A	Optics Letters, Band 8, Nr. 10, Oktober 1983 New York, N.Y. (US) W. Lukosz et al.: "Embossing technique for fabricating integrated optical components in hard inorganic waveguiding materials", Seiten 537-539, siehe Seite 537, linke Spalte	1, 4, 5
<p>¹⁰ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
19. August 1986		08 OCT 1986
Internationale Recherchenbehörde		Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten
Europäisches Patentamt		M. VAN MOL 

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	Clinical Chemistry, Band 30, Nr. 9, September 1984, Winston-Salem, NC (US) R.M. Sutherland et al.: "Optical detection of antibody-antigen reactions at a glass-liquid interface", Seiten 1533-1538, siehe Seite 1535, linke Spalte ab 'Microscope slide', rechte Spalte bis 'acid-washing procedure'; Figuren 2,3	1,8-11
A	US, A, 4344438 (J. SCHULTZ) 17. August 1982, siehe Spalten 26-44; Figur 5 (In der Anmeldung erwähnt)	1,16
A	US, A, 3856404 (A. HERSHLER) 24. Dezember 1974, siehe Spalte 1, Zeilen 53-68; Spalte 6, Zeilen 37-61	1,7
A	WO, A, 81/00912 (R. BUCKLES) 2. April 1981, siehe Seite 5; Seite 6, Zeilen 1-10	1,6,7

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE

INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR. PCT/CH 86/00072 (SA 13284)

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben. Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 15/09/86

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A- 4344438	17/08/82	Keine	
US-A- 3856404	24/12/74	FR-A- 2235626	24/01/75
		DE-A- 2351621	02/01/75
		GB-A- 1422437	28/01/76
		JP-A- 50033881	01/04/75
WO-A- 8100912	02/04/81	EP-A- 0036017	23/09/81
		US-A- 4321057	23/03/82
		US-A- 4399099	16/08/83
		CA-A- 1154827	04/10/83

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang :
siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr. 12/82

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.